

# **ESTUDI I COMPARACIÓ DEL CREIXEMENT I LA PRODUCCIÓ DE TRES ESPÈCIES DE *Pleurotus* EN DIFERENTS SUBSTRATS**



**ESCOLA SUPERIOR D'AGRICULTURA DE BARCELONA (ESAB)  
UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA (UPC)**

**Treball Final de Carrera  
Especialitat: Hortofructicultura i Jardineria  
Castelldefels, juliol del 2007**

**Presentat per:  
ALBERT AMAT ALGABA  
PERE MARTINEZ i de MAS**

---

**Tutors: MARIA TERESA MAS SERRA**

**ANTONI MARIA CLARET VERDÚ**

## **AGRAÏMENTS**

Volem agrair a la Maite i a en Claret la dedicació, l'esforç i la paciència que han tingut per fer possible la realització d'aquest treball.

Moltes gràcies també a la Neus i a en Josep l'ajuda proporcionada gràcies als seus coneixements, i especialment a la Neus per la seva dedicació i el seu interès, i per haver estat amb nosaltres durant tota la fase de l'experimentació.

Finalment, gràcies a la Marta per les traduccions.

# ESTUDI I COMPARACIÓ DEL CREIXEMENT I LA PRODUCCIÓ DE TRES ESPÈCIES DE *Pleurotus* EN DIFERENTS SUBSTRATS

**AUTORS:** Amat Algaba, Albert

Martinez de Mas, Pere

**TUTORS:** Mas Serra, M. Teresa

Verdú, Antoni M.C.

*Pleurotus ostreatus* és un Basidiomicet sapròfit comestible, la producció del qual s'ha incrementat sensiblement en els últims anys. L'objectiu principal del treball va ser estudiar la viabilitat de la utilització de residus vegetals produïts a Catalunya com a substrats de cultiu, i a l'hora contemplar la possibilitat de cultivar espècies de *Pleurotus* diferents de la gírgola o orellana (*Pleurotus ostreatus*), que actualment es comercialitza pràcticament tot l'any.

Per dur a terme l'estudi es va establir un experiment de cultiu al laboratori de tres espècies de *Pleurotus* (*Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus cornucopiae* i *Pleurotus eryngii*) en cinc substrats diferents ( palla, clòfia d'arròs + polpa de poma, encenall + polpa de poma, clòfia d'arròs + fruita seca i encenall + fruita seca). Per tal d'avaluar la viabilitat de les diferents combinacions espècie-substrat es va estudiar el percentatge de recobriment miceliar sobre el substrat, la producció de bolets, l'eficiència i la precocitat de producció.

Després d'analitzar les dades obtingudes, vam poder concloure que, pel fa a les espècies:

- *Pleurotus cornucopiae* no és una alternativa viable al cultiu de *Pleurotus ostreatus*, ja que la producció ha estat molt baixa i els micelis han recobert poc el substrat.
- *Pleurotus eryngii*, en canvi, el podem considerar com a alternativa, ja que s'han obtingut elevats recobriments i valors alts en les mitjanes de producció analitzades; fins i tot pel que fa a l'eficiència de conversió de massa de substrat a biomassa de bolets ha superat per terme mig a *Pleurotus ostreatus*.

Pel que fa al substrat:

- El substrat encenall + poma ha esdevingut una possible alternativa al substrat palla (control). Ha suportat, per terme mig, recobriments i produccions significativament més elevades que la palla i que la resta de substrats.
- Els substrats combinats amb fruita seca no són una bona alternativa al substrat palla ja que són els substrats que han obtingut mitjanes de recobriment i producció significativament més baixes.

**PARAULES CLAU:** Cultiu de bolets, gírgola, clòfia d'arròs, encenalls, polpa de fruita

## ESTUDIO Y COMPARACIÓN DEL CRECIMIENTO Y LA PRODUCCIÓN DE TRES ESPÉCIES DE *Pleurotus* EN DIFERENTES SUBSTRATOS

**AUTORES:** Amat Algaba, Albert

Martinez de Mas, Pere

**TUTORES:** Mas Serra, M. Teresa

Verdú, Antoni M.C.

*Pleurotus ostreatus* es un Basidiomiceto saprófito comestible, cuya producción ha incrementado sensiblemente en los últimos años. El objetivo principal del trabajo fue estudiar la viabilidad de utilizar residuos vegetales producidos en Catalunya como sustratos de cultivos, y a su vez contemplar la posibilidad de cultivar especies de *Pleurotus* diferentes a la seta ostra (*Pleurotus ostreatus*), que actualmente se comercializa prácticamente todo el año.

Para llevar a cabo el estudio se estableció un experimento de cultivo en el laboratorio de tres especies de *Pleurotus* (*Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus cornucopiae* y *Pleurotus eryngii*) en cinco sustratos diferentes (paja, cáscara de arroz + pulpa de manzana, virutas de madera + pulpa de manzana, cáscara de arroz + fruta seca y virutas de madera + fruta seca). Para evaluar la viabilidad de las diferentes combinaciones especie-sustrato se estudió el porcentaje de cobertura micelial sobre el sustrato, la producción de setas, la eficiencia y la precocidad de producción.

Después de analizar los datos obtenidos, pudimos concluir para las especies:

- *Pleurotus cornucopiae* no es una alternativa viable al cultivo de *Pleurotus ostreatus*, ya que la producción fue muy baja y los micelios recubrieron poco el sustrato.
- A *Pleurotus eryngii*, por el contrario, lo podemos considerar como alternativa, ya que se obtuvieron elevados recubrimientos y valores altos en las medias de producción analizadas; superando a *Pleurotus ostreatus* en eficiencia de conversión de masa de sustrato en biomasa de setas.

En el caso del sustrato:

- El sustrato virutas de madera + pulpa de manzana puede ser una posible alternativa al sustrato paja (control). Ha soportado, por término medio, recubrimientos y producciones significativamente más elevadas que la paja y que el resto de sustratos.
- Los sustratos combinados con fruta seca no son una buena alternativa al sustrato paja, ya que son los sustratos que han obtenido promedios de recubrimiento y producción significativamente más bajos.

**PALABRAS CLAVE:** cultivo de setas, seta ostra, cáscara de arroz, viruta, pulpa de fruta.

# STUDY AND COMPARISON OF THREE *Pleurotus* SPECIES GROWTH AND PRODUCTION IN SEVERAL SUBSTRATES

**AUTHORS:** Amat Algaba, Albert

Martinez de Mas, Pere

**TUTORS:** Mas Serra, M. Teresa

Verdú, Antoni M.C.

*Pleurotus ostreatus* is an edible Basidiomycete, which production has noticeably increased these last years. The main goal of this work is to study the viability as a growth substrate of different kind of vegetables waste that has been produced in Catalonia. At the same time, we also try to explore the possibilities of cultivate other species of *Pleurotus* rather than *Pleurotus ostreatus*, which is being marked during all year.

To carry out this work, a growth experiment was performed at the laboratory, with three species of *Pleurotus* (*Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus eryngii*) on five different substrates (cereal straw, rice's hulls + apple pulp, wood shavings + apple pulp, rice's hulls + dry fruits and wood shavings + dry fruits). In order to evaluate the viability of the different species-substrate combinations the percentage of the mycelial covering of the substrate, the mushroom production, the efficiency, and the precociousness of the production were the studied variables.

Results allow us to conclude that, about the species:

- *Pleurotus cornucopiae* is not a viable alternative of *Pleurotus ostreatus*, because the production has been very small, and the mycelia have poorly covered the substrate.
- On the other hand, *Pleurotus eryngii* can be considered an alternative, because we have obtained high mycelial coverings and high production values on the analyzed substrates. Afterthat, the conversion efficiency from mass substrate into mushrooms biomass has generally overcome that of *Pleurotus ostreatus*.

In relation to the substrates:

- The wood shavings + apple substrate has appeared as a possible alternative to cereal straw substrate. It has supported, generally, coverings and productions noticeably highest than cereal straw and the other substrates.
- The combinations of substrates with dry fruits are not a good alternative to the cereal straw substrate, because these substrates have produced the lowest productions and the lowest covering percentages.

**KEY WORDS:** mushroom crop, oyster mushroom, rice hull, wood shaving, fruit pulp.



<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	<b>1</b>
1.1. Interès dels bolets comestibles	1
1.1.1. Espècies cultivades	1
1.2. Sistemes de cultiu de <i>Pleurotus ostreatus</i>	1
1.2.1. Cultiu industrial de <i>Pleurotus ostreatus</i>	3
1.2.1.1. Preparació del substrat:	4
1.2.1.2. Sembra	4
1.2.1.3. Incubació	4
1.2.1.4. Fase de producció i collita	5
1.2.2. Plagues i malalties en el procés productiu de gírgoles	7
1.2.3. Principals problemes del cultiu de bolets	7
1.3. Situació taxonòmica i cicle vital de <i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>Pleurotus cornucopiae</i> i <i>Pleurotus eryngii</i>	8
1.3.1. Situació taxonòmica	8
1.3.1.1. Cicle reproductiu dels Basidiomicets	9
1.3.2. Gènere <i>Pleurotus</i>	9
1.3.2.1. <i>Pleurotus ostreatus</i>	10
1.3.2.2. <i>Pleurotus cornucopiae</i>	10
1.3.2.3. <i>Pleurotus eryngii</i>	11
<b>2. OBJECTIUS</b>	<b>12</b>



<b>3. MATERIAL I MÈTODES</b>	<b>13</b>
<b>3.1. Material</b>	<b>13</b>
3.1.1. Espècies	13
3.1.2. Substrats	13
3.1.3. Utensilis i accessoris	13
3.1.4. Equips	14
3.1.5. Programes informàtics	15
<b>3.2. Mètodes</b>	<b>16</b>
3.2.1. Preparació dels substrats	16
3.2.2. Inoculació dels substrats	16
3.2.3. Desenvolupament miceliar	18
3.2.4. Creixement i producció de bolets	18
3.2.5. Problemes en l'experimentació	19
<b>3.3. Variables estudiades</b>	<b>19</b>
<b>3.4. Tractament estadístic de les dades</b>	<b>20</b>
<b>4. RESULTATS I DISCUSSIÓ</b>	<b>21</b>
<b>4.1. Fase d'incubació</b>	<b>21</b>
4.1.1. Colonització del substrat per part de cadascuna de les tres espècies	21
4.1.1.1. <i>Pleurotus ostreatus</i>	22
4.1.1.2. <i>Pleurotus cornucopiae</i>	24
4.1.1.3. <i>Pleurotus eryngii</i>	26



4.1.2. Problemes durant la fase d'incubació	28
4.1.3. Comparació del recobriment en els diferents substrats	30
4.1.4. Comparació del recobriment de cada espècie per cada substrat	32
4.2. Producció	35
4.3. Eficiència dels substrats	41
4.3.1. Eficiències segons el pes sec dels bolets	41
4.3.2. Eficiències segons el pes fresc dels bolets	42
4.4. Precocitat	42
4.5. Discussió final	44
5. CONCLUSIONS	46
6. BIBLIOGRAFIA	47





## 1. Introducció

### 1.1. Interès dels bolets comestibles

En l'actualitat el consum de bolets per a l'alimentació ha pres un caire molt rellevant. A mesura que augmenta el nivell de vida el consum de bolets ha passat de ser una necessitat a consumir-se per les seves qualitats culinàries (1). De la mateixa manera, en països en vies de desenvolupament on menjar carn no sempre és fàcil, el consum de bolets i per tant de la proteïna que porta (19-35% del pes sec) pot ser un substitutiu idoni de la proteïna animal (2).

El cultiu dels bolets, d'altra banda, genera beneficis interessants per diversos motius (2):

- Beneficis directes: en l'alimentació
- Beneficis indirectes: per al seu conreu s'utilitzen materials locals com subproductes agrícoles, o residus compostats.

#### 1.1.1. Espècies cultivades:

A l'actualitat es coneixen unes 10.000 espècies de fongs, de les quals el 10% són comestibles (2). Les principals espècies comestibles per ordre d'importància són (4):

- *Agaricus bisporus* (xampinyó)
- *Lentinula edodes* (shi-take)
- *Pleurotus spp* (gírgola)
- *Auricularia spp* (orella de judes)
- *Flammulina velutipes* (flamulina)
- *Volvariella volvacea* (bolet de la paella d'arròs)

### 1.2. Sistemes de cultiu de *Pleurotus ostreatus*:

El consum de *Pleurotus ostreatus* es dona des de l'antiguitat a Europa, però va ser al final de la 2a Guerra Mundial que es va començar el cultiu industrial d'aquest fong. El primer cop que es va cultivar sobre un substrat format per palla va ser l'any 1945 (3). Els treballs per estudiar el cultiu sobre fusta van començar l'any 1945 a Hongria, Alemanya i Txecoslovàquia, i d'aquí es va anar estenent. El conreu definitiu sobre palla es va donar a partir dels anys 70 (1).



Actualment el cultiu industrial de gírgola ha evolucionat molt, i ara mateix és la segona espècie en importància cultivada al món, amb 900.000 tones de bolets l'any (3). Entre els anys 1986 i 1991 la producció mundial de gírgoles (diverses espècies, però principalment *Pleurotus ostreatus*) va experimentar un creixement de més del 400% (4), amb la qual cosa es pot veure l'evolució i la importància d'aquest cultiu a nivell mundial. Que aquest cultiu hagi incrementat tant és degut sobretot a que es pot cultivar sobre una àmplia gamma de substrats, a que constitueix una bona font de proteïnes i a que té importants propietats farmacèutiques i biotecnològiques (6).

Segons García Rollán (1), un resum del procés productiu de gírgoles seria sembrar el miceli sobre un substrat llenyós-cel·lulós humit, incubar-lo a 20-25°C ficat a dins d'un plàstic i al final mantenir les sèmres en espais humits i frescos (a menys de 15°C).

Actualment es poden trobar diverses empreses que comercialitzen miceli per fer les inoculacions, aquest preparat s'anomena blanc.

Hi ha diversos tipus de cultiu, ja siguin a escala industrial com familiar, entre els qual principalment hi ha (1):

- a) **Cultiu sobre troncs tallats:** el mètode més utilitzat és el de ficar troncs (sobretot de fusta tova, com *Populus nigra*) inoculats amb miceli en rases de humides fins que el miceli els colonitza, després es treuen de la rasa i es col·loquen els troncs en llocs frescos.

Els troncs han de tenir com a mínim 25cm de diàmetre, ja que com més petits siguin menys collita es tindrà.

Les inoculacions amb el miceli es poden fer de diverses maneres, ja sigui foradant els troncs amb un trepant i després omplir els orificis amb el miceli o bé fent talls amb un serra i omplir-los també amb miceli.

Un cop colonitzat, el tronc es posa en un lloc fresc, enterrat fins a la meitat perquè es pugui aprofitar la humitat del sòl.

Aquest mètode proporciona unes produccions mitjanes d'un 10% del pes de la fusta.

- b) **Cultiu sobre soques:** el sistema és molt semblant a l'anterior, només que en aquest cas el cultiu es fa sobre una soca d'arbre tallat i tot el procés es duu a terme allà

mateix. El més avantatjós del cas és que el propi fong al cap d'un temps de produir acaba destruint la soca i les arrels, cosa que permet cultivar qualsevol altra cosa al mateix terreny sense haver hagut d'arrencar la soca.

Aquest tipus de cultiu proporciona poc rendiment, i és problemàtic perquè la fusta de la soca acostuma a ser colonitzada també per altres fongs.

- c) **Cultiu al terra:** ja sigui a l'aire lliure o dins d'hivernacles.
- d) **Cultiu en pots de boca ampla:** molt utilitzat als països orientals. Permet fer totes les operacions automàticament.
- e) **Cultiu industrial sobre palla de cereals:** amb aquest sistema és com s'aconsegueixen millors resultats. Se sembra el miceli en un substrat format per palla, s'incuba a 25°C i després es posa en un lloc humit, fresc i ventilat.

Actualment ja s'han fet molts estudis per trobar altres substrats que puguin servir per a fer aquest cultiu, com podrien ser moresc, polpa de cafè, tavelles de fesol, encenalls d'alzina, lliri aquàtic, etc. (2). De fet el treball present tracta de buscar substrats alternatius a la palla.

#### 1.2.1. Cultiu industrial de *Pleurotus ostreatus*:

Per descriure aquest apartat ens basem en el cultiu industrial sobre palla descrit per García Rollán (1991), ja que la metodologia del procés productiu seria el mateix que amb un altre substrat, de fet els bolets creixeran sobre qualsevol medi ric en teixits vegetals dels quals es pugui nodrir, és a dir que tinguin cel·lulosa, hemicel·lulosa i lignina.

Les fases del procés són:

1. Preparació del substrat: 4 a 8 dies
2. Sembra del miceli
3. Incubació: 15 a 30 dies
4. Fase de producció: 10 a 20 dies
5. Collita: 45 a 60 dies



Il·lustració 1: *Pleurotus ostreatus* en cultiu (font: [www.telecable.es/personal](http://www.telecable.es/personal))



#### **1.2.1.1. Preparació del substrat:**

La palla s'ha de tallar en trossos de 2 a 5 cm, i qualsevol dels materials cel·lulosos o llenyosos que s'utilitzin com a substrat s'ha de picar o moldre abans de mesclar-se amb la palla.

Un cop fet això la palla s'ha d'humitejar, i un cop humitejada s'hi aplica un tractament de calor per tal d'esterilitzar-la. El tractament més normal per esterilitzar el substrat és la pasteurització.

El substrat que s'utilitza ha de complir un sèrie de requisits, a part de contenir cel·luloses, com són la presència de vitamina B<sub>1</sub>, o un pH adient. El més convenient durant la fase de desenvolupament del miceli és un pH d'entre 5'5 i 6'5. També ha de tenir un 1% de nitrogen.

#### **1.2.1.2. Sembra:**

Un cop fet el tractament tèrmic, quan el substrat està a 25-28°C i té un 70% d'humitat ja podem fer la sembra del miceli.

El miceli s'obté normalment granulat, és a dir que s'ha fet créixer generalment sobre grans de cereals, i com ja s'ha dit s'anomena blanc. D'aquesta manera és més fàcil fer un mescla homogènia. Normalment la quantitat de blanc que es posa a la mescla és l'equivalent al 3% del pes del substrat humit. Aquesta sembra s'ha de fer de tal manera que s'evitin al màxim les contaminacions. Un cop realitzada, la mescla es fica en bosses de plàstic.

#### **1.2.1.3. Incubació:**

Quan s'ha realitzat la mescla s'ha de col·locar en l'envàs que el contindrà en principi fins al final del cicle productiu. Això normalment són bosses de plàstic tancades i perforades de manera que hi pugui haver un cert intercanvi de gasos. Dins la bossa el miceli es va desenvolupant i acaba colonitzant tot el substrat. Això triga generalment entre 15 i 25 dies.



Els envasos han de complir:

- Mida dels cantons no superior als 50cm (per facilitar el maneig i per evitar sobreescalfaments)
- La major part de la superfície serà vertical

En cap moment es premsa el substrat, només es col·loca de manera que les bosses tinguin una densitat inferior a 0'36.

L'espai on es dugui a terme aquesta fase ha d'estar a les fosques, humit i entre els 18 i 25°C de temperatura, sent l'òptim els 20°C. Cal tenir en compte que:

- temperatura del miceli durant la incubació a d'estar entre 24 i 27°C
- a menys de 5°C, s'atura el creixement
- a -10°C i a més de 35-40°C: el miceli mor

#### **1.2.1.4. Fase de producció i collita:**

Un cop colonitzat tot el substrat es passen les bosses a un espai que compleixi:

- Temperatura: l'òptim és de 10-12°C. No sobrepassarà els 15°C.
- Humitat: alta. 70-75%
- Ventilació: fonamental. El contingut en CO<sub>2</sub> ha de ser inferior al 0'07%. Si és superior es retardarà el creixement, i si supera el 0'2% morirà el fong.
- Llum: 8-12 hores diàries.

Les bosses o blocs es posen al terra, sobre prestatges o plataformes, mirant de donar el màxim de superfície vertical.



**II-lustració 2: cultiu industrial de gírgoles. Les bosses es poden col·locar en prestatges**  
(font: [www.edelpilzzucht.de](http://www.edelpilzzucht.de))

Durant aquesta fase aniran sortint es bolets, que ho faran en tandes, produint-se el què s'anomenen les florades. Les tandes es donen de manera abundant durant tres a vuit dies, llavors hi ha una parada de deu o vint dies i després tornen a sortir. Això es va succeint, però després de la tercera tanda es recomana parar de collir ja que no és rendible i a més suposa un risc d'infeccions. En tot aquest procés es poden collir entre 100 i 200kg de bolets per cada tona de substrat preparat humit.

La collita s'ha de fer al moment oportú per evitar deshidratacions, podridures o pèrdua de les característiques organolèptiques (2).

Aquest seria el sistema de cultiu que s'utilitza per *Pleurotus ostreatus*, però per *Pleurotus eryngii* i per *Pleurotus cornucopiae* seria similar.

### 1.2.2. Plagues i malalties en el procés productiu de gírgoles (1) (2):

- Plagues: Col·lèmbols (*Hypogastrura armata*), Dípters (larves de mosques com *Megaselia sp.*, o de mosquits, com *Lycoriella*, *Heteropeza* o *Mycophila*).

També poden donar problemes els cargols i els llimacs i fins i tot els rosegadors.

- Malalties:

- i. Fongs: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Monascus ruber*, *Dactylium dendroides*, *Trichoderma*, *Verticillium fungicola*, *Stereum purpureum*, etc.

- ii. Bacteris: *Pseudomonas tolaasii*, *Pseudomonas fluorescents*.

- iii. Virus

### 1.2.3. Principals problemes del cultiu de bolets:

- La selecció i millora de bolets ha progressat molt lentament degut a la falta d'eines genètiques dissenyades per aquesta finalitat i a les dificultats tècniques que comporta l'anàlisi de nous híbrids a escala semi- industrial o industrial (6).
- La despesa del cultiu de bolets depèn molt de les condicions climàtiques de la zona on es cultivi el bolet, arribant per exemple a trobar-nos que si la zona de producció és molt calorosa el preu de refrigerar pot ser prohibitiu (1).
- Hi ha encara poc coneixement de la manera de viure i de la biologia dels fongs, cosa que no permet, en molts casos, una explotació racional (7).

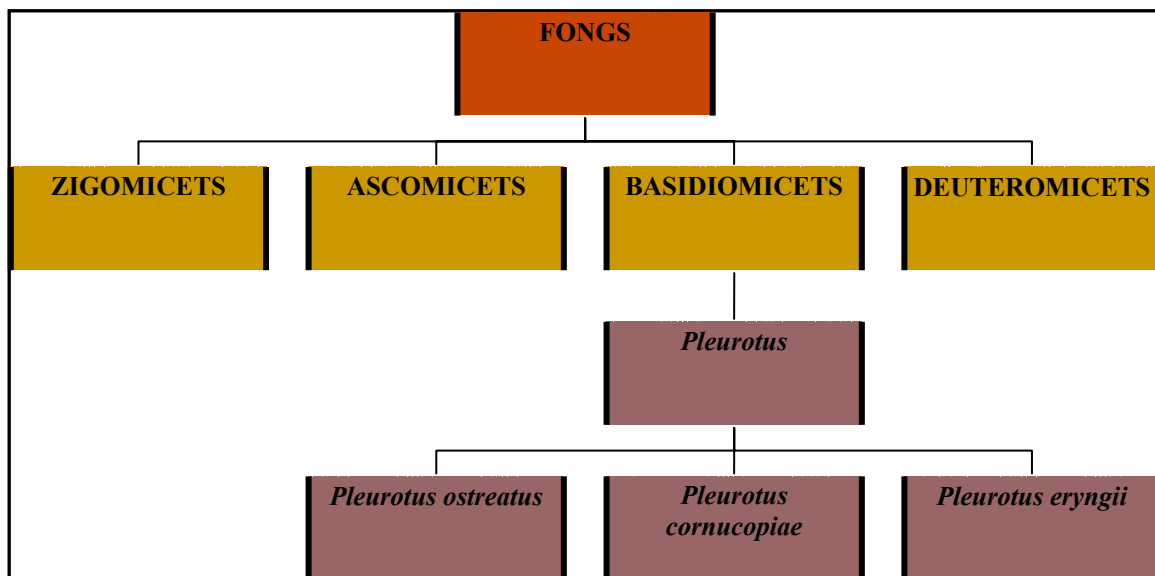


### 1.3. Situació taxonòmica i cicle vital de *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus cornucopiae* i *Pleurotus eryngii*

#### 1.3.1. Situació taxonòmica

Aquestes tres espècies pertanyen al Regne des Fongs, que agrupa individus unicel·lulars o pluricel·lulars, amb el cos constituït per hifes que formen un miceli, sense clorofil·la, de vida sapròfita, paràsita o simbiònt, integrada per les Classes dels Zigomicets, els Ascomicets, els Basidiomicets i els Deuteromicets (9).

Gràfica 1: situació taxonòmica de les gírgoles dins del Regne dels Fongs (Llimona, X; et al., 1991).

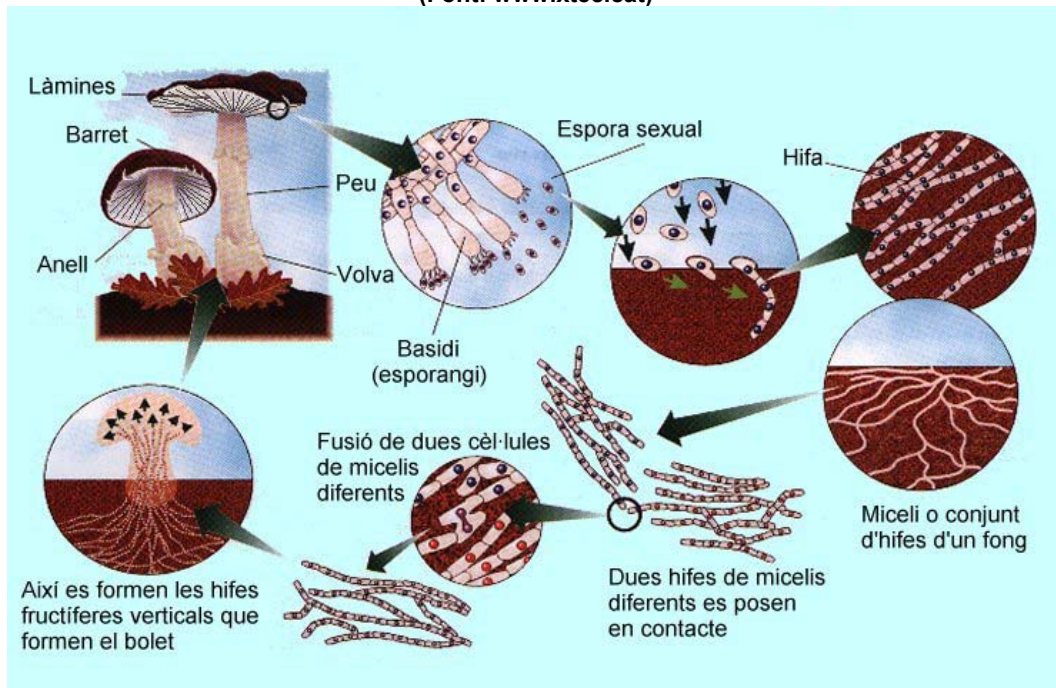


La Classe **Basidiomicets** comprèn un 1.100 gèneres, amb unes 16.000 espècies, saprofíiques, micorizògenes o paràsites, ben adaptades al medi terrestre. Es diferencien dels ascomicets sobretot perquè el miceli dicariòtic és vegetatiu. També n'és característica la presència de basidis, cèl·lules on es realitza la cariogàmia i la meiosi, que, per gemmació a l'extrem d'unes evaginacions, els esterigmes, originen típicament quatre exòspores, anomenades basidiòspores. La tercera gran diferència és la presència (amb l'excepció dels teliomicets i alguns grups de fongs gelatinosos) d'uns porus especialitzats als septes, els dolíporos (8).



### 1.3.1.1. Cicle reproductiu dels Basidiomicets

Il·lustració 3: Cicle reproductiu típic dels Basidiomicets.  
(Font: [www.xtec.cat](http://www.xtec.cat))



**1.3.2. Gènere *Pleurotus*:** gènere que agrupa diverses espècies de bolets de soca que presenten làmines i que tenen consistència sovint carnosa. Són els bolets coneguts com a gírgoles.

Tenen el carpòfor carnós, de color blanc, gris, brunenc o blavós, amb peu lateral o excèntric. L'estructura és monomítica o dimítica i la trama de les làmines és irregular (amb hifes irregularment entreteixides). Hi ha queilocistidis, i les espores són hialines, més o menys cilíndriques i no amiloides. Viuen sobre fusta diversa o sobre d'arrels d'umbel·líferes (8).

### 1.3.2.1. *Pleurotus ostreatus* (orellana, orellana de pollancre, gírgola):

Creix sobre fusta de planifolis, especialment pollancres, i rarament sobre coníferes. El carpòfor (4-15 cm) és de color gris, a vegades amb tonalitats liliàcies, brunes, negreses o blavoses. Té forma més o menys de petxina i és sostingut per un peu lateral o excèntric, poc estriat. Les làmines són decurrents (8).



Il·lustració 4: *Pleurotus ostreatus* (font: [www.smugmug.com](http://www.smugmug.com))

### 1.3.2.2. *Pleurotus cornucopiae*:

Creix sobre soques de roures, oms i altres planifolis. El carpòfor és primer convex però després s'enfonsa en forma d'embut, de 4 a 13 cm de diàmetre, sovint contornejat i irregular. De color bru clar o blanquinós, i les soques orientals són groguenques. El peu sol ser corbat i soldat a d'altres, amb línies longitudinals en relleu que solen anastomosar-se formant una xarxa (1).



Il·lustració 5: *Pleurotus cornucopiae* (font: [www.fungi4schools.org](http://www.fungi4schools.org))

**1.3.2.3. *Pleurotus eryngii*** (gírgola de panical, gírgola de card, gírgola d'espínacal, gírgola):

Apareix sobre arrels d'umbel·líferes, sobretot de panical (*Eryngium campestre*); presenta barrets convexos o deprimits (3-7 cm), de color blanquinós, grisenc o bru, amb un peu (3-10 x 1-3 cm) excèntric o central (8).



Il·lustració 6: *Pleurotus eryngii*  
(font: [www.fungaiolisciliani.it](http://www.fungaiolisciliani.it))



## 2. Objectius

L'objectiu principal d'aquest treball és provar substrats alternatius a la palla pel cultiu i la producció de bolets de tres espècies del gènere *Pleurotus*.

La idea de partida fou estudiar la viabilitat de la utilització de residus vegetals produïts a Catalunya per a la seva utilització com a substrat de cultiu, i alhora contemplar la possibilitat de cultivar espècies de *Pleurotus* diferents de la gírgola o orellana (*Pleurotus ostreatus*), que actualment es comercialitza pràcticament tot l'any.

En aquest marc, els objectius específics són:

- Comparar el comportament de quatre substrats diferents, formats a partir de residus d'indústries alimentàries i forestals, entre ells i amb el substrat palla, que es pren com a punt de referència.
- Concretament, comparar els substrats considerant les fases d'incubació i de producció de tres espècies de gírgola: *Pleurotus ostreatus*, *P. eryngii* i *P. cornucopiae*.

La finalitat global del treball és arribar a determinar quin és el substrat amb el qual cada espècie aconsegueix millor desenvolupament miceliar, major producció, més gran eficiència productiva i més ràpida producció.



### 3. Material i mètodes:

#### 3.1. Material

##### 3.1.1. Espècies

Es van utilitzar tres espècies de gírgola, concretament *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus cornucopiae* i *Pleurotus eryngii*. Les soques d'aquestes espècies procedien de la Unitat de Micologia del Departament de Biologia Vegetal, Biologia Animal i Ecologia de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). Aquestes soques es van facilitar dins de pots de vidre, en forma de blanc, és a dir en un agregat de llavors de blat i miceli.

##### 3.1.2. Substrats

Els materials que es van utilitzar per preparar els substrats van ser:

- Clòfia d'arròs. Residu procedent de l'empresa Herba Ricemill SLU.
- Encenalls de fusta. Residu d'una explotació forestal.
- Fruita seca (cítrics). Residu procedent d'una empresa que produeix suc de fruita.
- Palla. Principalment ordi procedent d'una explotació agrícola.
- Poma. Residu procedent d'una empresa que produeix suc de fruita.

##### 3.1.3. Utensilis i accessoris

Material per a la preparació del substrat, inoculació, cultiu i mesures

- Agulla emmanegada
- Agulla xeringa
- Aigua destil·lada
- Alcohol de 96°
- Bisturí
- Bol d'alumini de 3L
- Bosses de paper
- Bosses de paper
- Bosses de plàstic
- Colador
- Cossis de plàstic



- Cremador de flama
- Espàtules d'alumini
- *Eryngium campestre* (planta seca i trossejada)
- Film de plàstic transparent
- Guants estèrils
- Humidificador
- Làmpades fluorescents (20W)
- Penja-robes
- Peu de rei
- Pines de plàstic d'estendre la roba
- Retolador permanent
- Segellador tèrmic
- Suport horitzontal per càmera fotogràfica
- Temporitzador
- Tisores
- Vas de precipitats de 200mL
- Xeringa de 6mL



**Il·lustració 7: suport utilitzat per la cambra fotogràfica (foto dels autors)**

#### **3.1.4. Equips**

Instruments òptics:

- Càmera fotogràfica digital

Aparells de seguiment:

- Bàscula de precisió

Aparells per a l'esterilització i la sembra:

- Autoclau (*Selecta*)
- Cambra de flux laminar (*Telstar*)

Cambres de cultiu:

- Cambra frigorífica 6°C
- Estufa d'incubació 25°C
- Estufa assecat 36°C



- Sala de producció 18°C

#### **3.1.5. Programes informàtics:**

- Corel Photo-Paint 9
- Microsoft excel
- The SAS System V.8



## **3.2. Mètodes**

### **3.2.1. Preparació dels substrats**

Es van preparar cinc substrats en base als materials detallats al punt 3.1.2. A partir d'aquests es van fer les mescles per aconseguir els substrats de cultiu.

Abans de preparar les mescles tots els materials es van humitejar excepte la poma, que ja ho estava. Les mescles de materials del substrat van ser del 50% en pes humit de cada element. Els diferents components, un cop pesats, es van col·locar en cossis de plàstic, on es va fer la barreja. L'objectiu era aconseguir una mescla el màxim d'homogènia possible.

Un cop fetes les mescles es va procedir a fer l'autoclavat dels substrats a 120°C i 1 atmosfera durant 20 minuts.

Els substrats definitius que van resultar d'aquestes mescles van ser:

- Substrat 1: palla
- Substrat 2: clòfia d'arròs i poma
- Substrat 3: encenalls de fusta i poma
- Substrat 4: clòfia d'arròs i fruita seca
- Substrat 5: encenalls de fusta i fruita seca

### **3.2.2. Inoculació dels substrats**

La fase d'inoculació consisteix en posar en contacte els substrats amb el blanc i situar la barreja dins de bosses de plàstic.

Es va agafar, per cada substrat, un pes concret que seria el que tindria cada bossa de cultiu i que corresponia a un volum de 1 litre aproximadament. Així:

- Substrat 1: 175 g/bossa
- Substrat 2: 365 g/bossa
- Substrat 3: 350 g/bossa
- Substrat 4: 350 g/bossa
- Substrat 5: 450 g/bossa



Tot el procés es va fer dins la cambra de flux laminar, i va consistir en pesar el pes que tindria cada bossa amb la bàscula i passar aquest pes de substrat en un bol metàl·lic on es barrejava el blanc amb el substrat corresponent. La mesura del blanc es feia enrasant un colador petit, per així tenir sempre al mateix volum de miceli. Aquest volum corresponia a 80 ml per litre de substrat. En el cas de *Pleurotus eryngii* es van afegir 40 grams de panical (*Eryngium campestre*) per bossa.

Un cop feta la barreja vam posar la mescla dins de bosses de plàstic transparent, es van segellar, retolar indicant espècie, substrat, repetició i cara de la bossa, i finalment es van foradar amb una agulla emmanegada esterilitzada.

Per evitar infeccions es va fer tot el procés dins la cambra de flux laminar, ens vam canviar els guants estèrils cada cop que canviàvem d'espècie de fong i vam esterilitzar amb cada bossa les agulles emmanegades.

**Taula 1: resum de les bosses resultants.**

<b>Espècie</b>	<b>Substrat</b>	<b>nº repeticions</b>
<i>P.ostreatus</i>	Palla	3
<i>P.ostreatus</i>	Arròs i poma	4
<i>P.ostreatus</i>	Encenall i poma	4
<i>P.ostreatus</i>	Arròs i fruita seca	4
<i>P.ostreatus</i>	Encenall i fruita seca	5
<i>P.cornucopiae</i>	Palla	4
<i>P.cornucopiae</i>	Arròs i poma	4
<i>P.cornucopiae</i>	Encenall i poma	4
<i>P.cornucopiae</i>	Arròs i fruita seca	4
<i>P.cornucopiae</i>	Encenall i fruita seca	4
<i>P. eryngii</i>	Palla	4
<i>P. eryngii</i>	Arròs i poma	4
<i>P. eryngii</i>	Encenall i poma	4
<i>P. eryngii</i>	Arròs i fruita seca	4
<i>P. eryngii</i>	Encenall i fruita seca	3

Les incidències a destacar van ser:

En *P. ostreatus* amb substrat palla i en *P. eryngii* amb substrat encenall i fruita seca vam poder fer només tres repeticions.

En el cas de *P. ostreatus* amb substrat encenall i fruita seca hi ha cinc repeticions a causa d'un error, però vam considerar que no suposaria un problema.

Un cop fet tot això es va passar a la fase de desenvolupament miceliar.

### 3.2.3. Desenvolupament miceliar

Les bosses inoculades i termosegellades es van passar a l'estufa d'incubació, a 25°C de temperatura.

Durant aquesta etapa es va fer un seguiment del creixement del miceli gràcies a fotografies digitals que es prenen cada setmana de la mateixa àrea de cada cara de les bosses. S'utilitzava un suport metàl·lic perquè les fotografies es fessin sempre des de la mateixa distància. També la càmera feia sempre les fotografies amb la mateixa resolució de píxels. En les bosses que es va trigar més aquesta etapa va durar sis setmanes. A partir d'aquestes fotografies es va fer un estudi de l'evolució del miceli avaluant el percentatge de píxels corresponents a miceli, mitjançant un programa informàtic de tractament d'imatges anomenat *Corel Photo-paint 9*. Així es va establir el percentatge i velocitat de recobriment del substrat.

### 3.2.4. Creixement i producció de bolets

Quan les bosses presentaven un percentatge de recobriment proper al 90% eren passades a la cambra frigorífica durant 24 hores a 6°C per aplicar-hi un cop de fred i iniciar la fase de producció de bolets.

La fase de producció es va dur a terme en una sala amb condicions de llum, humitat i temperatura controlades que afavorissin la producció de bolets. Aquestes condicions eren:

- Ambient humit gràcies a l'humidificador, que humitejava durant 5 minuts cada hora.
- Llum: proporcionada pels fluorescents. 12 hores diàries.
- Temperatura propera als 18°C.

Aquesta fase de producció es va fer penjant verticalment les bosses en una prestatgeria, per així permetre produir totes les bosses per les dues cares. També es van fer tres talls en forma de creu a cada cara per afavorir l'intercanvi de gasos i la sortida dels bolets. Durant aquesta fase vam observar que la humitat proporcionada per l'humidificador no era suficient per al correcte desenvolupament dels bolets, i per tant es va decidir aportar setmanalment aigua a les bosses amb una xeringa de 6mL.

**II·lustració 9: prestatge de cultiu  
(foto dels autors)**



Els bolets que es van produir es van tallar quan assolien una mida d'uns 6cm de barret. Llavors es pesava el pes fresc i es posaven a l'estufa d'assecat a 36°C durant un setmana. Passat aquest temps es mesuràvem el pes sec.

**Il·lustració 10: *Pleurotus ostreatus* a punt de ser tallats (foto dels autors)**



### **3.2.5. Problemes en l'experimentació**

Durant la fase d'inoculació ens vam trobar amb diversos problemes. El principal va ser que moltes bosses es van veure afectades per infeccions fúngiques i bacterianes. Això ens va obligar en molts casos a haver de descartar bosses, ja que vèiem d'una banda que no tenien futur productiu i que a més suposaven un risc per la resta bosses. També vam trobar problemes a l'hora d'interpretar els píxels de les fotografies, ja que els reflexos es confonien amb el miceli.

Durant la següent fase els únics problemes que hi van haver van ser d'humitat com ja s'ha comentat, i al final del procés, on vam observar infeccions fúngiques i presència d'aranyes i mosquits.

### **3.3. Variables estudiades**

Per tal d'assolir els objectius de l'estudi es va decidir estudiar diverses variables.

Per la colonització del miceli es va estudiar el tant per cent de recobriment calculat a partir dels píxels que ocupava el miceli a cada fotografia. I la variable que ens va interessar va ser la velocitat de colonització, la velocitat és interessant per diversos aspectes. Els més important és el fet d'aconseguir el producte més ràpid i evitar contaminacions, ja que quan més es triga a colonitzar més probabilitat hi ha que apareguin contaminacions.

Per la producció de bolets es van estudiar cinc variables. Aquestes són: Pes fresc per



bossa, Pes sec per bossa, nombre de bolets per bossa, pes fresc promig de bolet (relació entre el Pes fresc de bossa i el nombre de bolets) i pes sec promig de bolet (relació entre el Pes sec de bossa i el nombre de bolets).

També es va estudiar l'eficiència productiva de cada bossa. L'eficiència es va calcular dividint el pes de bolets de cada bossa pel pes inicial de la bossa. L'eficiència ens dona informació de la transformació de biomassa de substrat en biomassa de bolets.

La darrera variable que es va estudiar va ser la precocitat, entesa com el temps que va necessitar cada bossa per produir el primer bolet, des del moment que entra en la fase de producció. La precocitat la mesurem amb dies i és molt interessant per fets semblants als de la colonització. Més rapidesa a produir per així tenir menys temps la mateixa bossa produint i poder renovar el cultiu i tenir més producció. I el fet d'evitar contaminacions per l'excés de temps en producció.

Les variables de producció i precocitat es compararan amb un estudi fet per Idareta et al. (6), en el qual es van estudiar diferents soques de *Pleurotus ostreatus* en substrat palla.

### **3.4. Tractament estadístic de les dades**

Totes les dades recollides van ser treballades en primera instància amb el programa Microsoft Excel.

Per les diferents variables obtingudes (velocitat i percentatge de recobriment, producció de bolets i eficiència de producció) es van fer anàlisis de variància considerant primer com a factor de variació el substrat i després l'espècie, seguit de la separació de mitjanes. Per fer les anàlisis de la variància i les separacions de mitjanes es va utilitzar el procediment GLM del paquet estadístic SAS (SAS Institute, 1999).



#### **4. Resultats i discussió.**

##### **4.1. Fase d'incubació.**

###### **4.1.1. Colonització del substrat per part de cadascuna de les tres espècies:**

L'estudi de la colonització del substrat es va fer per tal de veure quin era el substrat que afavoria més el desenvolupament dels micelis. L'estudi es va fer tenint en compte que actualment el substrat que s'utilitza per al cultiu de gírgoles és la palla, i per tant aquest va ser el substrat que vam utilitzar com a testimoni. Així doncs tots els resultats que es donen en aquest apartat estant comparats amb el substrat palla.

En aquestes taules es mostra l'evolució del percentatge de recobriment dels substrats per part dels micelis. Es van comparar els píxels obtinguts cada setmana per tal de poder elaborar una gràfica que indiqués quina era la seva evolució setmana rere setmana i així veure quin era el substrat que afavoria més el creixement miceliar.

En alguns casos es van haver descartar les bosses perquè les havien colonitzat altres fongs. En aquests casos això s'indica a la taula. En la resta de casos quan ja no hi ha dades és perquè es va donar per acabada la fase d'incubació i es va iniciar la fase de producció.

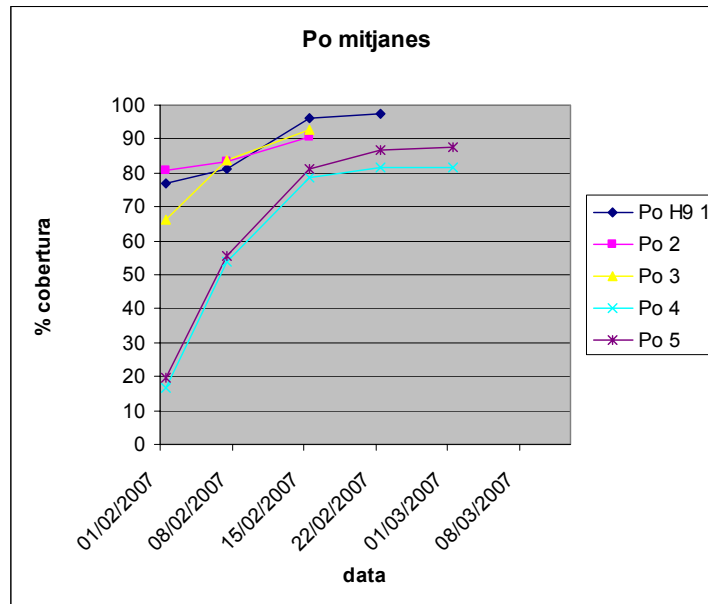
#### 4.1.1.1. *Pleurotus ostreatus*:

Taula 2: Percentatge de recobriment setmanal dels substrats per part del miceli de *Pleurotus ostreatus*. Valors en %.

Percentatge de recobriment setmanal en <i>Pleurotus ostreatus</i>							
Substrat	Rèplica	01-feb	07-feb	15-feb	22-feb	01-març	12-març
palla	1	79,07	79,03	96,84	95,65		
	2	79,10	76,55	94,73	99,00		
	3	73,00	88,52	96,98	98,24		
	Mitjanes	<b>77,06</b>	<b>81,37</b>	<b>96,18</b>	<b>97,63</b>		
clòfia d'arròs + poma	1	70,56	83,67	85,33			
	2	81,89	82,95	92,42			
	3	85,51	84,34	91,67			
	4	85,09	83,16	92,77			
	Mitjanes	<b>80,76</b>	<b>83,53</b>	<b>90,55</b>			
encenalls + poma	1	71,57	78,10	91,80			
	2	67,32	75,28	86,88			
	3	51,14	91,62	97,13			
	4	74,38	89,66	95,09			
	Mitjanes	<b>66,10</b>	<b>83,67</b>	<b>92,73</b>			
clòfia d'arròs + fruita seca	1	16,91	54,32	84,86	85,21	87,41	
	2	34,89	77,17	89,15	87,96		
	3	4,50	63,60	81,06	83,04	93,66	
	4	10,37	19,67	60,19	70,75	64,34	
	Mitjanes	<b>16,67</b>	<b>53,69</b>	<b>78,82</b>	<b>81,74</b>	<b>81,81</b>	
encenalls + fruita seca	1	21,30	66,96	79,85	90,69	92,36	
	2	20,40	68,24	79,08	80,10	87,47	
	3	14,02	44,75	74,37	86,72	81,11	
	4	23,34	25,10	81,27	79,00	81,83	
	5		72,29	91,56	97,67	96,13	
	Mitjanes	<b>19,77</b>	<b>55,47</b>	<b>81,23</b>	<b>86,84</b>	<b>87,78</b>	

En aquesta espècie cal destacar que totes les bosses de substrats van ser colonitzades pel fong. Els resultats van ser bastant homogenis: es va donar un gran desenvolupament del miceli durant les tres primeres setmanes i després un alentiment de la colonització.

**Gràfica 1: evolució setmanal del recobriment dels substrats en *Pleurotus ostreatus* (Po).**



Les rèpliques del cultiu sobre substrat palla es van retirar totes la quarta setmana d'haver-les posat a incubar, i totes tenien un percentatge de recobriment superior al 95%. Contrastant amb la resta de substrats vam trobar que les rèpliques dels cultius amb dels substrats de clòfia d'arròs + poma i els d'encenalls + poma es van retirar per aplicar-hi el cop de fred una setmana abans que la palla. En canvi les rèpliques dels cultius sobre clòfia d'arròs + fruita seca i les d'encenalls + fruita seca es van retirar una setmana després, és a dir, la cinquena setmana.

Pel què fa al percentatge de recobriment del substrat, les rèpliques dels substrats a base d'arròs + poma i els d'arròs + fruita seca tenien un percentatge de recobriment superior al 90% el dia que es van retirar, mentre que les d'arròs + fruita seca i les d'encenalls + fruita seca no arribaven a aquest percentatge de recobriment.

Troblem doncs que hi ha dos substrats (clòfia d'arròs + poma i encenalls + poma) que comparats amb el substrat testimoni (palla), afavoreixen un més ràpid desenvolupament del miceli i per tant una més ràpida colonització.

En contraposició trobem dos substrats (clòfia d'arròs + fruita seca i encenalls + fruita seca), on el miceli triga més a poder-se desenvolupar, i a més no acaben d'assolir el grau de recobriment de la resta de cultius.

#### 4.1.1.2. *Pleurotus cornucopiae*:

**Taula 3: Percentatge de recobriment setmanal dels substrats en *Pleurotus cornucopiae*.**  
Valors en %.

Percentatge de recobriment setmanal en <i>Pleurotus cornucopiae</i>							
Substrat	Rèplica	01-feb	07-feb	15-feb	22-feb	01-març	12-març
palla	1	4,01	54,63	59,51	descartat		
	2	34,66	72,50	63,56	77,50	78,91	
	3	31,80	65,79	73,68	79,47	81,87	
	4	20,75	65,61	66,87	75,40	83,91	
	Mitjanes	22,81	64,63	65,90	77,46	81,56	
clòfia d'arròs + poma	1	48,21	65,91	68,51	75,61		
	2	30,61	44,11	68,54	78,90	80,36	
	3	37,55	37,44	50,34	55,82	descartat	
	4	36,55	50,66	79,14	84,88		
	Mitjanes	38,23	49,53	66,63	73,80	90,18	
encenalls + poma	1	29,05	24,32	32,82	descartat		
	2	29,13	39,61	80,17	81,80	88,32	89,76
	3	22,86	31,70	77,11	81,09	80,46	83,60
	4	21,80	39,50	64,55	76,66	descartat	
	Mitjanes	25,71	33,78	63,66	79,85	84,39	86,68
clòfia d'arròs + fruita seca	1	21,85	50,66	52,40	57,95	59,38	descartat
	2	17,68	33,43	42,93	59,67	64,64	descartat
	3	12,22	20,69	26,87	49,76	descartat	
	4	21,03	32,20	37,23	44,01	descartat	
	Mitjanes	18,19	34,25	39,86	52,85	62,01	descartat
encenalls + fruita seca	1	17,87	49,61	61,27	70,38	78,11	descartat
	2	10,58	36,36	40,61	56,52	64,66	descartat
	3	10,51	24,04	40,85	59,77	descartat	
	4	16,72	33,18	46,97	55,91	descartat	
	Mitjanes	13,92	35,80	47,42	60,64	71,39	descartat

En el cas del cultiu de *Pleurotus cornucopiae* vam trobar que moltes de les bosses, i fins i tot en uns casos totes les rèpliques d'un mateix substrat, es van haver de descartar perquè van ser colonitzades per altres fongs. Això va fer que de les 20 bosses i 5 substrats que teníem al principi, arribéssim al final de la fase amb només tres substrats i vuit bosses.

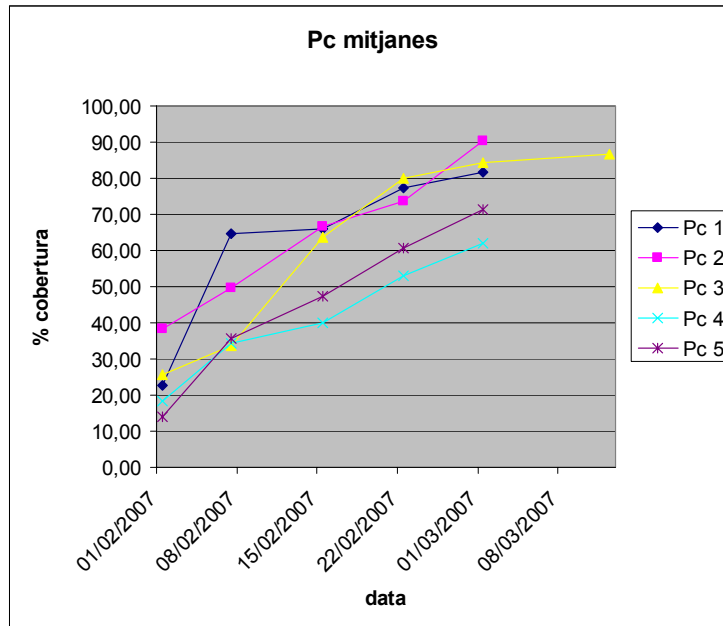
Cal comentar en aquest punt que una part dels resultats es poden explicar pel fet que el blanc que es va utilitzar per inocular els substrats no estava completament desenvolupat, i per tant potser caldria repetir l'experiència amb un blanc en millors condicions.

En qualsevol cas els substrats que es van descartar van ser el format per clòfia d'arròs + fruita seca i el format per encenalls + fruita seca.



A les bosses on hi va haver desenvolupament miceliar es va observar una velocitat de recobriment bastant homogènia, trobant-nos que cada setmana i per totes les rèpliques de tots els substrats la superfície coberta per miceli augmentava de forma més o menys lineal, tal com s'observa al gràfic:

**Gràfica 2: evolució setmanal del recobriment dels substrats en *Pleurotus cornucopiae* (Pc).**



En aquesta espècie el substrat format per en palla només vam haver de descartar una rèplica. La resta de rèpliques es van posar a la cambra per aplicar-hi el cop de fred la cinquena setmana d'incubació, quan el percentatge de recobriment era proper al 80%.

Dues de les rèpliques del substrat a base de clòfia d'arròs + de poma es van passar a la cambra una setmana abans que les rèpliques fetes amb substrat palla, i l'altra rèplica la mateixa setmana que les testimoni. El percentatge de recobriment també era proper al 80%.

Pel què fa a les rèpliques del cultiu amb substrat d'encenalls + poma van trigar una setmana més que les de palla a desenvolupar-se completament, ja que les vam tenir 6 setmanes en condicions d'incubació, però quan es van passar tenien un grau de recobriment superior al 83%.

En el cultiu d'aquesta espècie veiem doncs que els resultats del recobriment del substrat són molt similars en tots els casos, i que en principi els substrats que han aconseguit arribar al final de la fase no es diferencien gaire del testimoni, és a dir la palla.

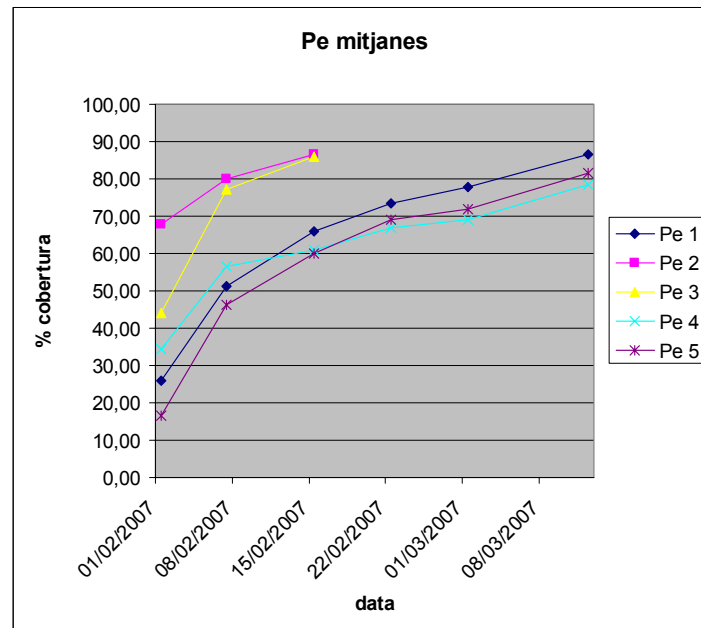
#### 4.1.1.3. *Pleurotus eryngii*:

Taula 4: Percentatge de recobriment setmanal dels substrats en *Pleurotus eryngii*. Valors en %.

Percentatge de recobriment setmanal en <i>Pleurotus eryngii</i>							
Substrat	Rèplica	01-feb	07-feb	15-feb	22-feb	01-març	12-març
palla	1	40,59	58,16	74,82	81,86	82,87	85,58
	2	26,32	59,37	64,73	67,53	74,32	89,50
	3	12,55	32,14	53,24	descartat		
	4	24,83	55,11	70,44	71,25	76,36	84,52
	Mitjanes	26,08	51,20	65,81	73,55	77,85	86,53
clòfia d'arròs + poma	1	72,90	79,69	83,23			
	2	75,54	82,93	88,04			
	3	54,71	79,07	86,98			
	4	67,69	78,62	88,15			
	Mitjanes	67,71	80,08	86,60			
encenalls + poma	1	32,02	72,58	83,46			
	2	49,46	77,73	83,87			
	3	53,13	78,82	87,72			
	4	41,25	79,92	88,15			
	Mitjanes	43,96	77,27	85,80			
clòfia d'arròs + fruita seca	1	35,71	55,26	58,14	69,28	descartat	
	2	19,02	47,63	61,48	64,18	descartat	
	3	47,60	67,17	63,35	67,76	66,61	
	4	34,86	55,87	60,27	65,98	71,77	78,52
	Mitjanes	34,30	56,48	60,81	66,80	69,19	78,52
encenalls + fruita seca	1	5,43	51,13	64,86	73,25	74,74	81,07
	2	13,96	39,13	63,55	66,61	71,70	descartat
	3	30,32	48,85	51,97	67,11	69,60	81,78
	Mitjanes	16,57	46,37	60,12	68,99	72,01	81,42

En el cultiu de *Pleurotus eryngii* vam haver de descartar poques bosses. Tots els substrats van tenir almenys dues rèpliques que van arribar al final de la fase d'incubació. Fins i tot en dos substrats, els formats per clòfia d'arròs + poma i el d'encenalls + poma, no vam haver de descartar cap bossa. Observant la gràfica del desenvolupament miceliar tornem a veure que en tots els casos les dues primeres setmanes aquest desenvolupament va ser molt ràpid, i a partir de la tercera ja va ser més lent.

**Gràfica 3: evolució setmanal del recobriment dels substrats en *Pleurotus eryngii* (Pe).**



Les rèpliques del cultiu sobre substrat palla es van passar a la cambra frigorífica la sisena setmana d'incubació, amb un percentatge de recobriment proper o superior al 85% en tots els casos.

En aquesta espècie les rèpliques dels substrats a base de clòfia d'arròs + poma i d'encenalls + poma van poder finalitzar la fase en tres setmanes, un cop assolit el mateix percentatge de recobriment que les rèpliques del substrat palla en la meitat de temps.

En els altres dos substrats, els de clòfia d'arròs + fruita seca i el d'encenalls + fruita seca el resultat van ser que les bosses es van passar majoritàriament a la cambra frigorífica la sisena setmana, igual que les rèpliques del cultiu amb palla, però amb un percentatge de recobriment que en cap cas arribava al 85%.

Ens vam trobar així amb dos substrats (clòfia d'arròs + poma i encenalls + poma) que van permetre una velocitat de colonització del doble de la del testimoni (palla), i dos substrats que amb el mateix temps d'incubació no van poder arribar al mateix percentatge que la palla.

#### 4.1.2. Problemes durant la fase d'incubació:

El problema principal amb què ens vam trobar durant la fase d'incubació va ser la contaminació per part d'altres fongs de diverses bosses. En alguns casos la totalitat de les rèpliques d'un cultiu es van veure afectades.

De tots els fongs invasors que es van trobar se'n van agafar mostres per tal de determinar de quina espècie es tractava. La determinació es va fer a la Unitat de Micologia del Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia de la Universitat Autònoma de Barcelona.

La relació d'infeccions que hi va haver es detalla en la taula següent:

**Taula 5: Taula resum de les contaminacions en la fase d'incubació**

Taula resum de les contaminacions en la fase d'incubació					
Espècie cultivada	Substrat	Espècie contaminant	Rèpliques	Rèpliques infectades	Rèpliques descartades
<i>Pleurotus ostreatus</i>	palla				
	arròs i poma				
	encenalls i poma				
	arròs i fruita seca	<i>Monascus ruber</i>	4	4	0
	encenalls i fruita seca	<i>Monascus ruber</i>	5	5	0
<i>Pleurotus cornucopiae</i>	palla	<i>Trichoderma</i>	4	1	1
	arròs i poma	<i>Monascus ruber</i>	4	2	1
	encenalls i poma	<i>Aspergillus sp.</i>	4	4	4
	arròs i fruita seca	<i>Monascus ruber</i> , <i>Trichoderma</i>	4	4	4
	encenalls i fruita seca	<i>Monascus ruber</i> , <i>Aspergillus sp.</i>	5	5	5
<i>Pleurotus eryngii</i>	palla	<i>Trichoderma</i>	4	1	1
	arròs i poma				
	encenalls i poma				
	arròs i fruita seca	<i>Monascus ruber</i>	4	4	2
	encenalls i fruita seca	<i>Monascus ruber</i> , <i>Trichoderma</i>	3	3	1

En aquesta taula s'observa que la majoria de tipus de substrats es van veure afectats per aquestes infeccions. En alguns casos això va suposar haver de descartar les bosses afectades, ja que el fong invasor va poder colonitzar el substrat abans que el fong de cultiu, i també per evitar que aquestes fongs invasors s'estenguessin per altres bosses, però això no va passar en tots els casos.

A continuació es detalla, per espècies, què va ser el què va passar amb les bosses infectades.



***Pleurotus ostreatus*:** en les bosses dels substrats de palla, de clòfia d'arròs + poma i d'encenalls + poma no hi van haver contaminacions en cap de les rèpliques. En les dels substrats de clòfia d'arròs + fruita seca i encenalls + fruita seca totes les rèpliques estaven contaminades per *Monascus ruber*, però no es van descartar perquè el miceli va continuar creixent durant les setmanes següents a la contaminació.

***Pleurotus cornucopiae*:** es van trobar moltes infeccions de fongs en les diferents rèpliques, concretament *Trichoderma* en el substrat de palla i de clòfia d'arròs i fruita seca, i *Monascus ruber* i *Aspergillus niger* en els substrats de clòfia d'arròs + poma, d'encenalls + poma, de clòfia d'arròs + fruita seca i d'encenalls + fruita seca. Totes les bosses que es van haver de descartar va ser per causa d'aquestes infeccions.

***Pleurotus eryngii*:** vam haver de descartar diverses bosses. Només en els substrats de clòfia d'arròs + poma i d'encenalls + poma no vam trobar cap bossa infectada. La tercera rèplica del substrat de palla es va descartar a causa d'una infecció de *Trichoderma*, i en totes les rèpliques dels substrats de clòfia d'arròs + fruita seca i d'encenalls + fruita seca vam trobar també presència de *Monascus ruber* i *Trichoderma*.

#### 4.1.3. Comparació del recobriment en els diferents substrats:

En aquest apartat vam estudiar les variables per determinar quin era el substrat amb el qual cada espècie es desenvolupava millor, és a dir, en quin substrat la colonització era més ràpida. Per fer-ho vam comparar les dades que teníem el 21è dia d'incubació, ja que en aquest dia va ser quan vam treure les primeres bosses de l'estufa per passar-les a la cambra frigorífica i després posar-les ja en condicions de fructificació.

Es va treballar amb les mitjanes de les repeticions de cada cultiu (espècie més substrat), i la variable estudiada era el substrat. Les dades utilitzades són les que es presenten a la taula:

**Taula 6: comparació del recobriment en els diferents substrats. Dades ordenades de més a menys percentatge de recobriment.**

Cobertura segons els substrats				
Espècie	Substrat	%cobertura	Grup estadístic	n. repeticions
<i>P.ostreatus</i>	palla	96,18	A	3
	encenalls i poma	92,73	A	4
	arròs i poma	90,55	AB	4
	arròs i fruita seca	78,82	B	5
	encenalls i fruita seca	81,23	B	5
<i>P.cornucopiae</i>	arròs i poma	66,63	A	4
	palla	65,9	A	4
	encenalls i poma	63,66	A	4
	encenalls i fruita seca	47,42	A	4
	arròs i fruita seca	39,86	A	4
<i>P.eryngii</i>	arròs i poma	86,6	A	4
	encenalls i poma	85,8	A	4
	palla	65,81	B	4
	arròs i fruita seca	60,81	B	4
	encenalls i fruita seca	60,12	B	3

- ***Pleurotus ostreatus*:**

Hi ha diferències significatives en les mitjanes de percentatge de recobriment. Trobem dos grups diferenciats, A i B. En el grup A trobem els substrats de palla i d'encenalls + poma, amb els quals s'ha obtingut un major percentatge de recobriment (superior al 90%).

En el grup B hi trobem els substrats d'arròs + fruita seca i d'encenalls + fruita seca, on el percentatge de recobriment era inferior al del grup A.

D'altra banda el substrat de clòfia d'arròs + poma no es diferencia significativament de cap dels dos grups.



Veient aquests resultats es constata que per *Pleurotus ostreatus* els substrats que més afavoreixen el desenvolupament del miceli són el de palla i el d'encenalls + poma, per aquest ordre, mentre que els que menys l'afavoreixen són el d'arròs + fruita seca i el d'encenalls + fruita seca. El substrat fet de clòfia d'arròs + poma, al no diferenciar-se dels altres el tindríem en un terme mig.

Per aquesta variable, doncs, no trobem cap substrat que doni resultats tan elevats com la palla.

- ***Pleurotus cornucopiae*:**

Les mitjanes no es diferencien significativament, i per tant no podem establir grups estadístics, tots els substrats donen una resposta similar.

De totes maneres, tot i no haver-hi aquestes diferències significatives, sí que veiem que altre cop els substrats de clòfia d'arròs + fruita seca i d'encenalls + fruita seca són els que han afavorit menys el creixement del miceli. De la mateixa manera, els que més l'ha afavorit són els de palla i d'arròs + poma.

- ***Pleurotus eryngii*:**

En aquesta espècie s'han obtingut diferències significatives en estudiar les mitjanes, podent establir dos grups diferenciats: el grup A és on hi ha hagut un major desenvolupament miceliar, i està format pels substrats d'arròs + poma i d'encenalls + poma, i al grup B, on aquest desenvolupament ha estat més petit, hi trobem els substrats de palla, de clòfia d'arròs + fruita seca i d'encenalls + fruita seca.

#### 4.1.4. Comparació del recobriment de cada espècie per cada substrat:

En aquest cas es va estudiar quina era la millor espècie per cada substrat. Per fer-ho es va fer també l'anàlisi de la variància i la separació de mitjanes. L'objectiu era saber quina era l'espècie més idònia per cultivar en cada substrat.

Els resultats són els que s'adjunten a la taula.

**Taula 7: comparació del recobriment de cada espècie per cada substrat. Dades ordenades de més a menys percentatge de recobriment.**

Cobertura segons l'espècie				
Substrat	Espècie	%cobertura	Grup estadístic	n. repeticions
palla	<i>P.ostreatus</i>	96,18	A	3
	<i>P.eryngii</i>	65,81	B	4
	<i>P.cornucopiae</i>	65,9	B	4
arròs i poma	<i>P.ostreatus</i>	90,54	A	4
	<i>P.eryngii</i>	86,6	A	4
	<i>P.cornucopiae</i>	66,63	B	4
encenalls i poma	<i>P.ostreatus</i>	92,73	A	4
	<i>P.eryngii</i>	85,8	A	4
	<i>P.cornucopiae</i>	63,66	B	4
arròs i fruita seca	<i>P.ostreatus</i>	78,82	A	4
	<i>P.eryngii</i>	60,81	B	4
	<i>P.cornucopiae</i>	39,86	C	4
encenalls i fruita seca	<i>P.ostreatus</i>	81,23	A	5
	<i>P.eryngii</i>	60,12	B	3
	<i>P.cornucopiae</i>	47,43	B	4

- **Substrat palla:**

En el substrat palla trobem diferències significatives pel que fa el percentatge de recobriment. Trobem 2 grups diferenciats, el grup A format per *Pleurotus ostreatus*; i el grup B format per *Pleurotus eryngii* i *Pleurotus cornucopiae*.

També veiem que pel substrat palla el percentatge de recobriment de *Pleurotus ostreatus* és molt més alt que no pas el percentatge de les altres dues espècies. Per tant podem dir que la millor espècie per el cultivar en palla és *Pleurotus ostreatus*.



- **Substrat de clòfia d'arròs i poma:**

En el substrat arròs i poma també hi trobem diferències significatives. En aquest cas però, els grups es formen de manera diferent. En el grup A hi trobem *Pleurotus ostreatus* i *Pleurotus eryngii*. En el grup B hi trobem només *Pleurotus cornucopiae*.

*Pleurotus ostreatus* torna a ser l'espècie que té més percentatge de recobriment en aquest substrat, però en aquest cas no es diferencia tant de *Pleurotus eryngii*. En canvi tots dos sí que es separen de *Pleurotus cornucopiae* que té un percentatge molt més baix.

- **Substrat d'encenalls i poma:**

En el substrat encenalls i poma també hi trobem diferències significatives. En aquest cas torna haver-hi la mateixa distribució que en el substrat de clòfia d'arròs i poma. El grup A el forma *Pleurotus ostreatus* i *Pleurotus eryngii* mentre que el grup B només hi ha *Pleurotus cornucopiae*.

*Pleurotus ostreatus* és l'espècie amb més percentatge de recobriment pel substrat d'encenalls i poma, tot i que el percentatge de recobriment de *Pleurotus eryngii* no s'allunya tant com en altres substrats (palla, clòfia d'arròs i fruita seca, i encenalls i fruita seca).

- **Substrat d'arròs i fruita seca:**

En el cas del substrat arròs i fruita seca obtenim diferències significatives pel percentatge de recobriment entre les tres espècies, formant-se així tres grups, A, B, C, un per cada espècie. En el grup A hi ha *Pleurotus ostreatus*, el grup B hi ha *Pleurotus eryngii* i el grup C hi trobem *Pleurotus cornucopiae*. En aquest cas no hi ha cap percentatge que s'assembli entre ells.

*Pleurotus ostreatus* presenta el millor percentatge de recobriment dins del substrat. En canvi en aquest substrat *Pleurotus cornucopiae* presenta el percentatge de recobriment més baix de tots els substrats, amb un 39,85%.



- **Substrat d'encenalls i fruita seca:**

En el substrat encenall i fruita seca s'observen diferències significatives, però en aquest cas només se separen dos grups. El grup A format per *Pleurotus ostreatus* i el grup B format per *Pleurotus eryngii* i *Pleurotus cornucopiae*.

En aquest substrat *Pleurotus ostreatus* és el que presenta, de manera aïllada, el percentatge de recobriment més elevat. *Pleurotus eryngii* i *Pleurotus cornucopiae*, en canvi tenen un percentatge de recobriment molt més baix.

## 4.2. Producció.

Per avaluar la producció, com es comenta a l'apartat 3.3. (Variables estudiades), es van estudiar cinc variables. Aquestes són: Pes fresc per bossa, Pes sec per bossa, nombre de bolets per bossa, Pes fresc promig de bolet (relació entre el Pes fresc de bossa i el nombre de bolets) i Pes sec promig de bolet (relació entre el Pes sec de bossa i el nombre de bolets).

La producció és un paràmetre molt interessant per estudiar ja que és un indicador que utilitzen les empreses productores per avaluar la seva posició en el mercat. Per poder apropar els nostres resultats a la realitat hem decidit utilitzar un substrat control. Aquest substrat és la palla, ja que és el substrat que utilitzen la majoria d'empreses productores.

**Taula 8: mitjanes dels paràmetres relacionats amb la producció obtinguts per cadascuna de les tres espècies en cadascun dels cinc substrats.**

Espècie	Substrat	Repeticions	n.bolets	PF (g)	PS (g)	PF/bolet (g)	PS/bolet (g)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1	3	3,67	10,03	1,93	4,24	0,67
	2	4	10	33,32	6,54	3,58	0,65
	3	4	18,5	46	7,13	3,23	0,52
	4	4	6	22,58	4,22	3,56	0,7
	5	5	6,2	35,1	5,38	6,09	0,94
<i>Pleurotus cornucopiae</i>	1	4	0	0	0	0	0
	2	4	21,5	4,99	1,69	0,2	0,04
	3	4	3,25	3,73	0,82	0,59	0,12
	4	4	0	0	0	0	0
	5	4	0	0	0	0	0
<i>Pleurotus eryngii</i>	1	4	0	0	0	0	0
	2	4	2,25	43,38	4,96	18,55	2,13
	3	4	2,25	47,03	6,14	21,44	2,76
	4	4	0	0	0	0	0
	5	3	2	5,11	0,82	4,77	0,7

Substrat 1: palla; substrat 2: arròs i poma; substrat 3: encenalls i poma; substrat 4: arròs i fruita seca; substrat 5: encenalls i fruita seca.

La taula recull els resultats obtinguts en Pes fresc per bossa, Pes sec per bossa, nombre de bolets per bossa, Pes fresc promig de bolet (relació entre el Pes fresc de bossa i el nombre de bolets) i Pes sec promig de bolet (relació entre el Pes sec de bossa i el nombre de bolets)

Pel què fa a la producció de bolets l'aspecte més significatiu és que l'espècie *Pleurotus cornucopiae* amb els substrats palla, arròs + fruita seca i encenalls + fruita seca no ha produït cap bolet. En part aquest fet pot estar justificat per la quantitat de bosses que es van eliminar a causa de les infeccions que es van produir durant la fase de colonització del miceli. També és molt important el fet que hi va haver 5 bosses que, tot i passar a la fase de producció, no van

produir cap bolet. Tres d'aquestes bosses eren del substrat palla i les altres dues, una del substrat arròs + poma i l'altre del substrat encenall + poma.

En les altres dues espècies, en canvi, no es van descartar tantes bosses.

Pel que fa als substrats, veiem que els substrats arròs + poma i encenalls + poma són els únics que han produït amb totes tres espècies.

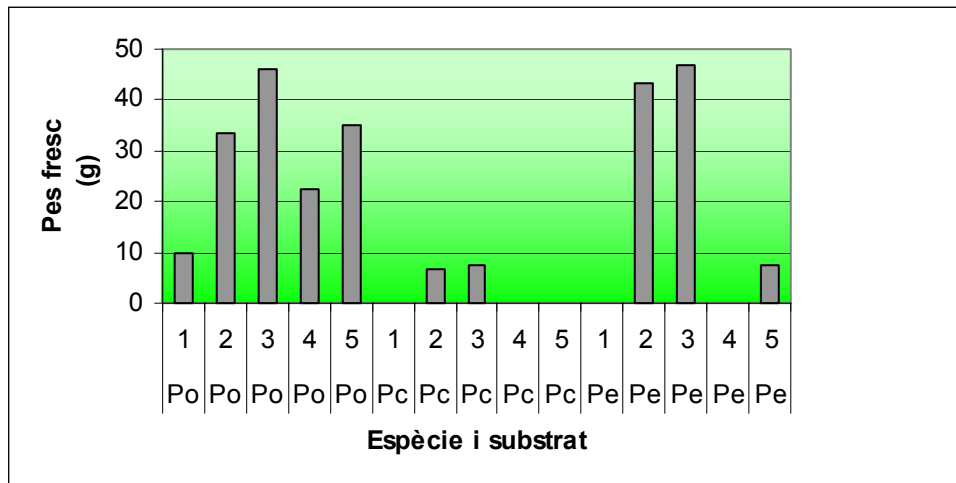
En *Pleurotus eryngii* el nombre de bolets és molt inferior a les altres espècies, això ve donat perquè és una espècie que produeix bolets sense agrupacions nombroses però més grossos, al contrari que les altres dues espècies que solen produir en agrupacions de bolets més petits.

Com s'ha comentat en l'apartat 3.3 (Variables estudiades), es comparen les dades obtingudes amb un estudi fet Idareta et al.(6). Es comparen els resultats obtinguts per *Pleurotus ostreatus* pel què fa a producció. Per tal de poder comparar les dades, ja que els estudis no es fan en les mateixes proporcions de material, utilitzarem la variable pes fresc promig de bolet.

En aquest aspecte podem dir que per aquesta variable els nostres resultats estan per sota de la varietat control de l'article (Hk35) que proporciona un promig de 14,6 g. El resultat més alt que hem obtingut és de 6,09 g, en el substrat encenall + fruita seca. En canvi aquest resultat ja s'acosta més als obtinguts per les altres varietats estudiades en l'estudi. Hi ha tres varietats que, tot i que sempre estan per sobre s'acosten al màxim que hem obtingut. En aquest cas obtenen: 8'5; 7'4 i 6'3 g. En canvi es torna allunyar per altres tres varietats, que obtenen 9'7; 10'8 i 14'4 g. Les tres varietats que s'acosten al nostre màxim, en l'estudi navarrès són desestimades per tenir un rendiment que s'allunya dels requeriments comercials, que seria el resultat obtingut per Hk35.

Tenint en compte aquest últim punt i que els altres substrats encara han obtingut uns resultats més baixos, podem dir que els nostres resultats s'allunyen dels resultats comercials proposats per Idareta et al. (6).

**Gràfica 4: Producció de bolets en termes de pes fresc de tots els bolets produïts per una bossa.**



Po: *Pleurotus ostreatus*; Pc: *Pleurotus cornucopiae*; Pe: *Pleurotus eryngii*. Substrat 1: palla; substrat 2: arròs i poma; substrat 3: encenalls i poma; substrat 4: arròs i fruita seca; substrat 5: encenalls i fruita seca.

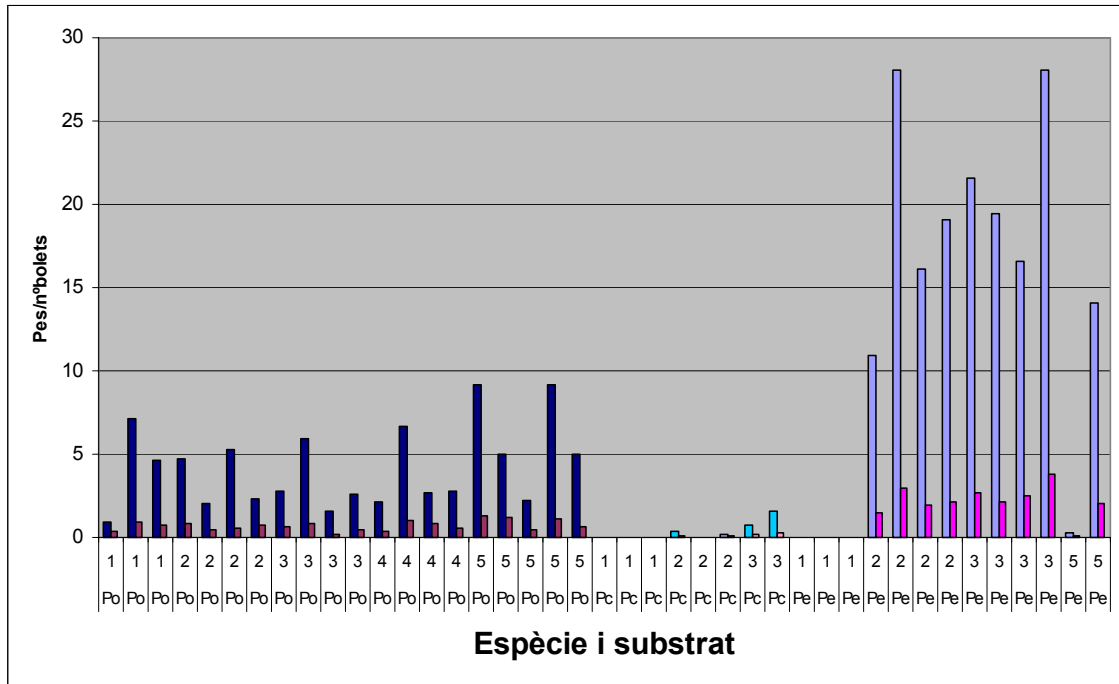
Si ens centrem en pes fresc, que és com es comercialitzen aquests bolets, veiem que l'espècie més productiva és *Pleurotus ostreatus*, ja que és la única espècie que produeix amb tots els substrats. Seguit de *Pleurotus eryngii*, que va obtenir bolets amb molt de pes fresc amb tres dels cinc substrats. Finalment tenim *Pleurotus cornucopiae* que només va produir amb dos substrats i amb poc pes.

Aquí es veu gràficament com els dos substrats més productius són arròs + poma i encenall + poma.

Si comparem els resultats obtinguts amb el substrat control palla, veiem com hi ha quatre substrats que en alguna ocasió superen en producció el substrat palla. En el cas de *Pleurotus ostreatus* tots els substrats superen la producció de la palla. Com justificarem més endavant entre el substrat palla i el substrat encenalls + poma hi ha una diferència de producció considerable.

En les altres dues espècies el més significatiu és que el substrat palla no ha produït.

**Gràfica 5: comparativa del pes fresc promig del bolet (relació entre el pes fresc de bossa i el nombre de bolets) i pes sec promig de bolet (relació entre el pes sec de bossa i el nombre de bolets).**



Po: *Pleurotus ostreatus*; Pc: *Pleurotus cornucopiae*; Pe: *Pleurotus eryngii*. Substrat 1: palla; substrat 2: arròs i poma; substrat 3: encenalls i poma; substrat 4: arròs i fruita seca; substrat 5: encenalls i fruita seca.

En aquest gràfic veiem com en *Pleurotus ostreatus* i en *Pleurotus cornucopiae*, en moltes bosses, no hi ha gaire diferència entre el pes fresc i el pes sec, quan això per la morfologia del bolet hauria de ser una diferència molt més gran, ja que al voltant del 90% del bolet és aigua. Aquest fet s'explica gràcies a un dels punts comentats en l'apartat 3.2.5. (Problemes en l'experimentació). El problema en concret va ser la manca de humitat que va esdevenir un dels factors més difícils de controlar durant l'experiment. Tot i que es va decidir injectar aigua directament a les bosses, no es va poder evitar que molts bolets comptabilitzats s'assequessin i no es desenvolupessin normalment. Això va ser la causa que la diferència entre el pes fresc i el pes sec fos tant petita.

#### • Discussió de les separacions de les mitjanes i la desviació de la variància

Amb l'ajut del programa estadístic SAS System vam poder determinar si les diferències de producció observades en cada espècie amb el factor de variació substrat eren o no significatives. Això ens va permetre justificar les observacions comentades anteriorment.

L'estudi es va fer amb les variables nombre de bolets, pes fresc dels bolets, pes sec dels bolets, relació pes fresc amb nombre de bolets i relació pes sec amb nombre de bolets. Es va comparar les mitjanes de totes aquestes variables.

**Taula 9: anàlisi de la variància considerant el factor de variació el substrat per la variable nº de bolets.**

Espècie	Factor de variació	G.II.	∑ Quadrats	Quadrats mitjans	F valor	P ≥ F
Po	Substrat	4	525,533	131,3833	2,74	0,0679
Pc	Substrat	2	1324,7083	662,3542	2,54	0,1735
Pe	Substrat	4	17,3571	4,3393	3,4	0,59

Com es pot observar a la taula en cap de les tres espècies hi ha diferències significatives, ja que en tots tres casos  $P > 0,05$ , això vol dir que pel que fa al nombre de bolets el substrat no és un factor de variació significatiu.

**Taula 10: anàlisi de la variància considerant el factor de variació el substrat per la variable pes fresc.**

Espècie	Factor de variació	G.II.	∑ Quadrats	Quadrats mitjans	F valor	P ≥ F
Po	Substrat	4	2606,7877	131,3833	2,82	0,063
Pc	Substrat	1	6,3731	6,331	0,48	0,561
Pe	Substrat	2	2280,6546	1140,3273	2,67	0,137

En aquest cas també veiem com el substrat no és un factor de variació significatiu en el pes fresc, ja que  $P > 0,05$  en tots tres casos. Aquí el substrat no provoca diferències significatives de producció, valorada en pes fresc.

**Taula 11: anàlisi de la variància considerant el factor de variació el substrat per la variable pes sec.**

Espècie	Factor de variació	G.II.	∑ Quadrats	Quadrats mitjans	F valor	P ≥ F
Po	Substrat	4	58,3772	14,5943	3,68	0,028
Pc	Substrat	1	2,9739	2,9739	5,1	0,125
Pe	Substrat	2	32,6299	16,3149	3,07	0,1106

Com es veu en la taula anterior pel que fa al pes sec en *Pleurotus ostreatus* la probabilitat és inferior a 0,05, això ens indica que el substrat és un factor de variació significatiu. En canvi en les altres dues espècies el substrat no suposa una variació significativa, ja que  $P > 0,05$ .

En canvi pel que fa al pes fresc i, com ja hem vist també en el pes sec, si que es van trobar diferències significatives en la separació de mitjanes. En aquest cas només es van trobar diferències significatives, respecte a les mitjanes de totes les repeticions, entre dos substrats. Aquestes són el substrat 1 amb una mitjana de 9,31g i el substrat 3 amb 33,005 g.

En el cas de pes sec es van tornar a trobar diferències significatives entre aquests substrats. El substrat palla mitjana de 1,416g i el substrat encenall + poma amb la mitjana de 7,643g. En aquest cas la discussió és la mateixa que el cas anterior, el substrat encenall + poma a produeix significativament més que el substrat palla.

**Taula 12: anàlisi de la variància considerant factor de variació el substrat per la variable Pes fresc/nº bolets.**

Espècie	Factor de variació	G.II.	$\sum$ Quadrats	Quadrats mitjans	F valor	P $\geq$ F
Po	Substrat	4	24,8758	6,2189	1,06	0,4094
Pc	Substrat	1	0,8701	0,8701	4,65	0,1638
Pe	Substrat	2	280,7658	140,3829	3,06	0,1107

En el cas de la relació pes fresc i nombre de bolets el substrat tampoc suposa un factor de variació en cap de les tres espècies.

**Taula 13: anàlisi de la variància considerant factor de variació el substrat per la variable Pes sec/nº de bolets.**

Espècie	Factor de variació	G.II.	$\sum$ Quadrats	Quadrats mitjans	F valor	P $\geq$ F
Po	Substrat	4	0,4229	0,1057	1,21	0,3492
Pc	Substrat	1	0,0304	0,0304	10,54	0,0822
Pe	Substrat	2	3,8983	1,9491	3,02	0,1136

En les tres espècies el substrat no és un factor de variació significatiu pel què fa la relació pes sec amb nombre de bolets.  $P > 0,05$ .

La separació de les mitjanes ha mostrat com només hi ha diferències significatives de producció entre els dos casos comentats anteriorment, en *Pleurotus ostreatus* entre els substrats palla i encenall + poma, pel què fa a pes fresc i pes sec.

En les altres variables i les altres combinacions de fong i substrat les mitjanes no s'han separat i per tant ens informa que no hi ha diferències significatives pel què fa a la producció.



### 4.3. Eficiència dels substrats.

L'estudi de l'eficiència ens aporta coneixements de cara a determinar la transformació de biomassa de substrat en biomassa de bolets.

En el cas de la precocitat ens dona informació de quin és el substrat que comença a produir més ràpid.

Com hem comentat en l'apartat 3.3 variables estudiades, l'eficiència és la relació entre el pes de bolets obtingut i el pes inicial de la bossa. I la precocitat és el temps que tarda a sortir el primer bolet des del moment que es col·loca la bossa en condicions de producció.

**Taula 14: anàlisi de l'eficiència utilitzant el pes fresc i el pes sec. Les dades corresponen a les mitjanes obtingudes a partir de les repeticions de cada substrat.**

Espècie	Substrat	Efit PS	GRUP	Efit PF	GRUP	Precoc	GRUP	Repeticions
Po	1	0,0675	B	0,0573	A	24	A	3
Po	2	0,083	B	0,0913	A	16	BA	4
Po	3	0,1392	A	0,1314	A	14	B	4
Po	4	0,0414	B	0,0645	A	16	BA	4
Po	5	0,054	B	0,078	A	16,4	BA	5
Pe	2	0,0417	BA	0,1071	A	26,25	A	4
Pe	3	0,0673	A	0,1206	A	24,75	A	4
Pe	5	0,0088	B	0,0157	A	26,5	A	2

Po: *Pleurotus ostreatus*; Pc: *Pleurotus cornucopiae*; Pe: *Pleurotus eryngii*. Substrat 1: palla; substrat 2: arròs i poma; substrat 3: encenalls i poma; substrat 4: arròs i fruita seca; substrat 5: encenalls i fruita seca. A i B són grups diferenciats significativament.

#### 4.3.1. Eficiències segons el pes sec dels bolets

Analitzant les dades de pes sec i fent-ne les mitjanes observem diferències significatives entre els diferents substrats; hi ha hagut, per tant, substrats més eficients que d'altres.

Mirant *P.ostreatus* veiem que hi ha dos grups clarament diferenciats. D'una banda hi ha el substrat que ha aconseguit una major eficàcia, el substrat encenall + poma amb eficiència de 0,1392 (un 14 % de la biomassa de substrat es transforma en biomassa de bolets) i de l'altra tota la resta de substrats. Si comparem el substrat encenall + poma amb el substrat control palla, veiem que el substrat estudiat és molt més eficient que no pas el control. I podem assegurar que aquesta diferència és significativa. Per tant el substrat encenall + poma és el substrat més eficient per què fa a *Pleurotus ostreatus*.

En *Pleurotus eryngii* s'observen també dos grups estadístics, i al grup amb major eficiència s'hi troba altre cop el substrat encenalls + poma. No es pot diferenciar, però, del substrat arròs + poma ja que les mitjanes no se separen significativament.

Tampoc podem diferenciar significativament el substrat arròs + poma del el substrat encenalls i fruita seca, ja que les mitjanes no se separen significativament.

Així, podem dir que el substrat encenall + poma és significativament més eficient que el substrat encenall + fruita seca. I que els dos substrats més eficients són encenall + poma i arròs + poma.

#### **4.3.2. Eficiències segons el pes fresc dels bolets**

Analitzant les dades del pes fresc veiem que no es corresponen amb el pes sec. En aquest cas no hi ha diferències significatives, per tant podem dir que no hi ha cap substrat que sigui més eficient que els altres. De totes maneres, observant les mitjanes es pot veure que el substrat encenall + poma dóna una eficiència més alta que els altres substrats en les dues espècies.

En aquest apartat, per tant, podem dir que no trobem diferències significatives entre els diferents substrats, ni per *Pleurotus ostreatus* ni per *Pleurotus eryngii*.

#### **4.4. Precocitat**

Com ja hem comentat la precocitat la mesurem en dies.

L'estudi de la precocitat, en el cas de *Pleurotus ostreatus*, indica que hi ha dos grups de substrats diferenciats, ja que tenim diferències significatives en els dies per produir el primer bolet. Al grup més precoç hi destaca el substrat encenall + poma amb 14 dies, ja que és l'únic substrat que es diferencia significativament del substrat que ha tingut la precocitat més baixa, el substrat palla amb 24 dies. Tot i això no podem dir que el substrat encenall + poma sigui significativament més precoç que els substrats arròs + poma, arròs + fruita seca i encenall + fruita seca, ja que entre ells no hi ha diferències significatives. Aquets últims substrats tampoc es diferencien significativament del substrat menys precoç, el substrat palla.



De totes maneres, observant la taula veiem com la precocitat del substrats arròs + poma, arròs + fruita seca i encenall + fruita seca, al voltant dels 16 dies, s'acosta més a la precocitat del substrat encenall + poma amb 14 dies que no pas a la de la palla, 24 dies.

Així el substrat més precoç és encenall + poma però només per dos dies de diferència dels tres substrats que el segueixen

Pel què fa *Pleurotus eryngii* no trobem diferències significatives entre substrats, però també s'observa que el substrat encenall + poma és el que ha trigat menys a produir bolets.

En l'estudi de la precocitat s'observa que *Pleurotus ostreatus* triga, en termes generals, molt menys a produir que *Pleurotus eryngii*. Aquesta diferència és d'uns 10 dies.

Com hem comentat en l'apartat 3.3 (Variables estudiades) comparem els resultats de precocitat amb un estudi fet per Idareta et al. (6).

Pel què fa a precocitat els resultats que hem obtingut són més alts, cosa que vol dir que produeixen més tard que els de l'estudi fet per Idareta et al. (6) . En el millor dels casos, respecte el seu control Hk35, el nostre produeix 3'9 dies més tard. És el cas del substrat encenalls + poma. Aquest mateix substrat es diferencia de només 0'6 dies més tard de la varietat 046, que és la varietat que ha produït més tard al seu estudi.

Per tant podem dir que el substrat encenalls + poma té una precocitat que s'acosta a la proposada per Idareta et al. (6), com a precocitat idònia per produccions comercials. En canvi els altres substrats ja divergeixen més acusadament dels patrons comercials proposats per aquests autors (6).

#### 4.5. Discussió final

##### **Pel què fa a la colonització en els diferents substrats:**

- *Pleurotus ostreatus* es desenvolupa significativament millor en el substrats palla i encenalls + poma. Entre aquests dos substrats, però, no hi ha diferències estadísticament significatives. Aquesta espècie ha colonitzat amb èxit tots els substrats.
- En *Pleurotus cornucopiae* no s'han trobat diferències significatives entre substrats pel què fa al desenvolupament del miceli. En aquesta espècie no s'ha aconseguit colonitzar amb èxit cap dels substrats que s'han provat.
- *Pleurotus eryngii* es desenvolupa significativament millor en els substrats arròs + poma i encenalls + poma. El miceli de *Pleurotus eryngii* aconsegueix colonitzar la majoria de substrats, si bé el recobriment aconseguit no arriba a ser mai tant gran com en el cas de *Pleurotus ostreatus*.
- Els substrats que presenten menys desenvolupament miceliar en totes les espècies són arròs + fruita seca i encenalls + fruita seca.

##### **Pel què fa a la producció en els diferents substrats:**

- En el cas de *Pleurotus ostreatus* podem concloure que només el substrat encenall + poma produeix significativament més que el substrat de palla. Per tant podem dir que és el substrat més productiu pel què fa a pes fresc i pes sec d'entre els que s'han provat.
- Pel què fa les altres dues espècies no podem concloure que un substrat sigui més productiu que els altres, però podem descartar per no productius els substrats palla i arròs + fruita seca en el cas de *Pleurotus eryngii* i el substrat palla, arròs + fruita seca i encenall + fruita seca en el cas de *Pleurotus cornucopiae*.

##### **Pel què fa a la producció de cada espècie:**

- *Pleurotus cornucopiae* ha resultat no ser una espècie alternativa ja que ha produït molt poc i només ha colonitzat i produït en dos substrat.

- El cultiu de *Pleurotus eryngii* el podem considerar viable, ja que s'han obtingut produccions destacables en la majoria de substrats, equivalents en pes a les produccions obtingudes amb *Pleurotus ostreatus*.

**Pel què fa a l'eficiència de cada substrat per cada espècie:**

- Pel que fa a *Pleurotus ostreatus* el substrat significativament més eficient ha estat encenall + poma.
- Pel que fa a *Pleurotus eryngii* el substrat encenall + poma és significativament més eficient que el substrat encenall + fruita seca. Els dos substrats més eficients són encenall + poma i arròs + poma.

**Pel què fa a la precocitat per cada substrat i per cada espècie:**

- En *Pleurotus ostreatus* el substrat que permet més precocitat en la formació de bolets és encenall + poma ja que és l'únic que es diferencia del substrat palla que és el menys eficient.
- En *Pleurotus eryngii* no hi ha cap substrat que sigui significativament diferent dels altres pel què fa a aquesta variable.

Veient aquests resultats podem concloure que el substrat encenall + poma és el que sustenta produccions més elevades, ja que és l'únic que es diferencia significativament de la resta en les variables estudiades.



## 5. Conclusions

Després d'estudiar i analitzar tots els resultats podem concloure que:

1. El cultiu de *Pleurotus cornucopiae* no és una alternativa al cultiu de *Pleurotus ostreatus*, com a mínim amb els mateixos substrats i en les mateixes condicions ambientals, ja que la producció ha estat nul·la i s'han obtingut mals resultats en les variables relacionades amb la colonització del substrat.
2. *Pleurotus eryngii* pot ser, en canvi, una alternativa al cultiu de *Pleurotus ostreatus*. Amb aquesta espècie s'han aconseguit elevades taxes de recobriment del substrat i bons resultats en producció i en eficiència de transformació del substrat, similars o fins i tot superiors als de *Pleurotus ostreatus*.
3. El substrat encenalls + poma pot ser una alternativa al substrat palla, ja que sustenta creixements miceliars i produccions més elevades que la resta de substrats, inclòs el substrat palla.
4. Els substrats arròs + fruita seca i encenalls + fruita seca són els substrats amb els quals s'aconsegueixen creixements miceliars i produccions més baixes en les tres espècies cultivades.



## 6. Bibliografia

(per ordre cronològic d'incorporació al manuscrit)

- 1 García Rollán, M. 1991. *Cultivo de setas y trufa*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.
- 2 Velasco Velasco, J; Vayas di Bella, E. 2004. *Cultivo del hongo seta (*Pleurotus ostreatus*)*. Sesretaría de la Reforma Agraria, Gobierno de México.
- 3 Job, D. 2004. *La utilización de la borra de café como sustrato de base para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jack.:Fr.) Kummer*. Revista Iberoam Micol, 21: 195-197.
- 4 Pérez Marlo, R; Mata, G. 2002. *Selección de cepas de *Pleurotus ostreatus* (Jack. Ex Fr.) Kummer y *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Qué. y la factibilidad de reutilizarla madera de *Pinus* spp. para su cultivo*. Foresta Veracruzana, vol 4, número 001, pp. 31-34.
- 5 Salmones, D; Gaitán-Hernández, R; Pérez, R; Guzmán, G. 1997. *Estudios sobre el género *Pleurotus* VII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad*. Revista Iberoam Micol, 14: 173-176.
- 6 Idareta, E; Larraya, L; Pisabano, A.G; Ramírez, L. 2004. *Evaluación de parámetros de producción y de calidad en cultivo semi-industrial de cepas de seta ostra *Pleurotus ostreatus* obtenidas mediante selección asistida por marcadores moleculares*. Actas de Horticultura nº 40. II Congreso de Mejora Genética de Plantas, Leon, 2004.
- 7 López Kontini, E. 1990. *Cultivo del champiñón, la trufa y otros hongos*. AEDOS Editorial.
- 8 Llimona, X et al. 1991. *Història Natural dels Països Catalans. Vol. V: Fongs i Líquens*. Barcelona: Fundació Enciclopèdia Catalana.
- 9 Rey Huerga, N. 2007. *Estudi del creixement i la producció de *Pleurotus ostreatus* H9 en diversos substrats*. Castelldefels: Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, UPC.
- 10 García Rollán, M. 1982. *Cultivo industrial de *Pleurotus ostreatus**. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- 11 Lozano, J.C. 1989. *Producción comercial del champiñón *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café*. Asociación Latinoamericana de Fitopatólogos.



- 12 Orensanz García, J. 1979. *Cultivo del Pleurotus ostreatus sobre madera*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- 13 Pascual, R. 1999. *Guia dels bolets dels Països Catalans*. Barcelona: Editorial Pòrtic.
- 14 Infoagro.com. *Cultivo Industrial de setas*. [en línia], Espanya, [Consulta: juny del 2007]. Disponible a: <<http://www.infoagro.com/forestales/setas.asp>>.
- 15 Xarxa Telemàtica Educativa de Catalunya, Camp d'aprenentatge de l'Alt Berguedà. *Els Fongs i els Bolets*. [en línia], [Consulta: juny del 2007]. Disponible a: <<http://www.xtec.es/cda-altbergueda/recursos/bolets.doc>>.
- 16 Gràcia, E. 2005. *Caçadors de bolets, la Guia*. Barcelona: la Magrana.
- 17 Bolòs, O., Vigo, J., Masalles, R.M. i Ninot, J.M. 2005. *Flora Manual dels Països Catalans*. Barcelona: Editorial Pòrtic.
- 18 Web de las setas del IES Valle de Aller. [en línia], [Consulta: juny del 2007]. Disponible a: <<http://www.telecable.es/personales/santosnicolas/index.htm>>.
- 19 Associazione Didattico Culturale "Fungaioli Siciliani". [en línia], [consulta: juny del 2007]. Disponible a: <<http://www.fungaiolisiciliani.it/>>.
- 20 Marion, H. *Dunkelhäuser edelpilzzucht*. [en línia], [consulta: juny del 2007]. Disponible a: <<http://www.edelpilzzucht.de/kraeuterseitling.html>>.
- 21 British Mycological Society. [en línia], [consulta: juny del 2007]. Disponible a: <<http://www.fungi4schools.org/>>.
- 22 Recurs. [en línia], [consulta: juny del 2007]. Disponible a: <<http://www.smugmug.com/community/FungusMushroom/keyword/oyster+fungus#1166256>>
- 23 SAS Institute Inc. 1999. SAS OnlineDoc®, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc.
- 24 Chang, R. 1996. *Functional properties of edible mushrooms*. Nutr. Rev. 54: 91-93.